

состояния сосудистого эндотелия и угнетению мышечных сокращений. С другой стороны, доноры NO способны в значительной степени уменьшать повреждающее влияние оксидативного стресса, инициированного активацией МП, на сосуды и миокард.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет нам сделать следующие выводы. Оксидативный стресс митохондриального происхождения вызывает развитие дисфункции эндотелия и угнетение сократительных реакций, как миокарда, так и скелетной мышцы. Поврежденная миокардиальная трабекула освобождает NO-содержащий фактор, способный оказывать протективное действие на сосуды. Такое же действие оказывают экзогенные нитрозоглютацион и нитропрусид натрия. Механизм или механизмы, лежащие в основе такого позитивного действия требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Дмитриева А.В., Сагач В.Ф., Надточий С.Н., Богуславский А.Ю. Депрессорный фактор, освобождающийся из ишемизированного сердца, является NO-содержащей структурой. // Пурины и монооксид азота.- Минск, Технопринт.- 2003.- С.28-30.
2. Acuna-Castroviejo D., Martin M., Macias M., Escames G., Reiter R.J. Melatonin, mitochondria and cellular bioenergetics. // J. Pineal Res.- 2001.- 30.- P.65-74.
3. Borutaite V., Morkuniene R., Brown G.C. Nitric oxide donors, nitrosothiols and mitochondrial respiration inhibitors induce caspase activation by different mechanisms // FEBS Letters.- 2000.- 467.- P.155-159.
4. Korge P., Goldhaber J.I., Weiss J.N. Phenylarsine oxide induced mitochondrial permeability transition, hypercontracture, and cardiac cell death. // Am. J. Physiol. - 2001.- 280.- P.H2203-H2213.
5. Murphy A. Mitochondria in human disease. // The Biochemist.- 2000.- 4. - P. 29- 34.
6. Skulachev V.H. Mitochondrial physiology and pathology: Concepts or programmed death of organelles, cells and organisms // Mol. Aspects Med.- 1999.- 20.- P. 139-184.

ОКСИД АЗОТА И ТРАНСПОРТ КИСЛОРОДА КРОВЬЮ

Зинчук В.В., Глебов А.Н.

Государственный медицинский университет, г. Гродно

The reaction of nitric oxide (NO) with hemoglobin leads to synthesis of methemoglobin, nitrosylhemoglobin ($\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$) and S-nitrosohemoglobin (SNO-Hb). The blood oxygen - binding properties affect the state of the L-arginine-NO system, but this system also can determine the hemoglobin

function modifying the hemoglobin-oxygen affinity (HOA). NO can influence the tissue oxygenation during the various hypoxias through its effects on HOA and regulation of blood flow. In the same time, the mechanisms of O₂ transport (including the blood oxygen-binding properties) can determine the activity of L-arginine-NO system. NO interacts with O₂-, generating a powerful oxidant peroxynitrite that can modify the hemoglobin properties in the various reactions. Such modulation of the blood oxygen-binding properties is important for gas exchange due to the heterogeneous endothelial NO synthesis and different volume blood content in the different parts of the cardiovascular system (in the smallest arterioles and capillaries), and therefore can contribute into the genesis of endothelial disfunction.

NO в реакции с гемоглобином образует метгемоглобин, нитрозилгемоглобин ($\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$) и S-нитрозогемоглобина (SNO-Hb). Стационарная концентрация NO определяется скоростью его образования и разложения, так как NO и его метаболиты в существенных количествах в тканях не запасаются. Активность различных изоформ NO-синтаз колеблется в широком пределе: тип I (нейрональная) NO-синтаза имеет максимальное значение около 300, тип II (макрофагальная) – до 1000, тип III (эндотелиальная) – около 15 нмоль/мг/мин [Меньшикова Е.Б. и др., 2000]. Измерение содержания NO в просвете сосудов на различных участках сердечно-сосудистой системы показывает диапазон его изменений в пределах 0,3-1,3 мкмоль. По измерениям с помощью микроэлектродной техники установлено, что эндотелий может вырабатывать в 10-40 раз больше NO, чем это требуется для активации растворимой гемосодержащей гуанилатциклазы [Malinski T. et al., 1992]. Общее количество, синтезируемого NO судя по уровню NO_3^- , колеблется от 150 до 1000 мкмоль/сут. Образование NO эндотелием *in situ* или в культуре примерно равно 4 пмоль/кг белка-мин, что в перерасчете на общую массу эндотелия 1,5 кг для организма человека составляет 1728 мкмоль/сут. Оценка образования NO в организме (методом вдыхания стабильного изотопа кислорода $^{18}\text{O}_2$) показала, что скорость его образования составляет $0,38 \pm 0,06$ мкмоль/кг-час, а общее суточное количество 600-700 мкмоль [Sakinis A. et al., 1999]. Для удовлетворения основных метаболических потребностей организма необходимо миллимолярные количества O₂ и наномолярные концентрации NO.

Биологическая функция NO-производных гемоглобина во многом неясна. Гемоглобин способен выполнять функцию депо NO в микроциркуляторной сети. В сосудистой сети нитрозотиолы, образуемые при опосредуемом NO нитрозировании тиолов, играют важную роль в транспорте, хранении и метаболизме NO. Предполагается, что SNO-Hb действует как "аллостерически контролируемый буфер NO", обменивающий свою NO-группу с тиолами среды, в том числе с

глутатионом, и тем самым, изменяя кровоток (выполняя роль критического фактора, определяющего доставку O_2). Сравнительно стабильные вазоактивные соединения могут служить системой хранения NO. Депонирование оксида азота можно рассматривать как фактор адаптационной защиты; существует NO-индуцированная активация различных защитных факторов (теплошоковые белки, простагландины, антиоксидантная система).

Уровень SNO-Hb в артериальной крови близок к 1 мкмоль. Возникает вопрос, почему присутствующие *in vivo* количества SNO-Hb и $HbFe^{2+}NO$ столь громадны, для чего они сохраняют свою связанную с NO активность. Гемоглобин регулирует вытеснение NO, а так как кровоток регулируется наномолярными уровнями нитрозотиилов, его образование для расширения кровеносных сосудов и доставки O_2 намного важнее, чем связанное с ним изменение оксигенации крови, которое может происходить лишь при его уровнях выше физиологических [Зинчук В.В., 2003]. Образование NO является кислородзависимым процессом. Кислород является одним из субстратов, необходимых для синтеза NO (константа Михаэлиса для него в этой реакции лежит в физиологической области), что позволяет предполагать его лимитирующую роль для образования NO. При $pO_2 < 30$ мм рт.ст. ферментативный синтез NO. O_2 является важным фактором, определяющим активность NO-синтазы в гипоксических тканях или в сосудистом русле, где в норме встречаются pO_2 в области 40 мм рт.ст.; активность NO-синтазы может ингибироваться гипоксией. В гепатоцитах крыс выявлен механизм кислородной регуляции экспрессии гена индуцибельной изоформы NO-синтазы: низкое pO_2 индуцирует синтез NO, что может иметь значение для формирования резистентности этих клеток к ишемическому.

NO через эффект на SGK и регуляцию кровотока может влиять на процессы оксигенации тканей при различных гипоксиях. В тоже время механизмы транспорта O_2 и, в частности, кислородсвязывающие свойства крови, могут определять активность L-аргинин-NO системы. Введение предшественника NO - L-аргинина может вызывать положительный эффект на более поздних стадиях гипотермии и сопровождаться менее выраженными нарушениями транспорта кислорода кровью, что, возможно, обусловлено его эффектом как на гемоглобин, так и на кровоток [Zinchuk V.V., Dorochina L.V., 2002]. Очевидно, эффект коррекции L-аргинин-NO системы обусловлен как результатом прямого действия NO на гемоглобин, так и опосредовано через кислородзависимый механизм регуляции образования NO.

NO взаимодействует с O_2^- с образованием пероксинитрита (мощного окислителя), который может быть модификатором свойств гемоглобина через различные реакции. ONOO⁻ обуславливает: прямое окисление железа; нитрование остатков тирозина на молекуле

гемоглобина. Также гемоглобин может обеспечивать защиту от пероксинитрита, выполняя функцию внутриклеточного антиоксиданта. Его способность связывать NO не только в результате образования комплексов с гемовым железом, но и путем образования комплексов с тиоловыми группами, обеспечивает защиту клеток и субклеточных структур от избыточного образования NO. При этом уменьшается вероятность образования высоких концентраций пероксинитритов, а следовательно, и повреждающего действия высокореакционных продуктов, образующихся в результате распада пероксинитритов. Это может иметь важное значение в модификации функциональных свойств гемоглобина и его участия в формировании потока O_2 в ткани и поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме [Zinchuk V.V. et al., 2003]. Существует определенная связь между СГК и процессами его аутоокисления и окислительной модификации. Гемоглобин выступает в роли редокс-активного соединения, существует псевдопероксидазный каталитический цикл, возникающий между Fe^{3+} и Fe^{4+} при поглощении гемоглобином H_2O_2 . При нормальных физиологических условиях, когда количество, образуемого NO невелико, прооксидантные эффекты ONOO⁻ и H_2O_2 угнетаются антиоксидантной функцией NO; в условиях сдвига прооксидантно-антиоксидантного баланса, чрезмерного образования O_2^- и соответственно ONOO⁻ и H_2O_2 реализуется прооксидантный эффект NO. СГК, регулируя уровень NO, может вносить вклад в равновесие между ним и O_2^- в сосудистой сети.

Кислородсвязывающие свойства крови влияют на состояние L-аргинин-NO системы, и в тоже время она может определять функциональные свойства гемоглобина путем модификации его сродства к кислороду через внутриэритроцитарные механизмы регуляции, кислородзависимый характер образования NO, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита. Их влияние на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови важно для процессов газообмена за счет гетерогенности эндотелия по NO-образующей функции и особенностей объемного содержания крови в различных отделах сердечно-сосудистой системы (в терминальных артериолах и капиллярах), что может иметь значение и в генезе дисфункции.

Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (№ Б03-019).

Литература

1. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Успехи физиологических наук. - 2003. - Т.34, №2. - С.33-45.
2. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных

- функциональных состояниях // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 4. – С. 485-503.
3. Malinski T., Taha Z. Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic-based microsensor // Nature. – Vol.358. – 1992. – P. 676-677.
 4. Sakinis A., Jungersten L., Wennmalm A. An 18oxygen inhalation method for determination of total body formation of nitric oxide in humans // Clin. Physiol. – 1999. – Vol. 19, №6. – P. 504-509.
 5. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V. Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with modification of the L-arginine-NO pathway // Nitric. Oxide. – 2002. – Vol. 6, № 1. – P. 29-34.
 6. Zinchuk V.V., Khodosovsky M.N., Maslakov D.A. Influence of different oxygen modes on the blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant status during hepatic ischemia/reperfusion // Physiol. Res. – 2003. Vol.52, №5. –p.533-544.

КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩИЙ ЭФФЕКТ КАРВЕДИЛОЛА, ОПОСРЕДОВАННЫЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМ ОКСИДОМ АЗОТА

Козловский В. И. *, Хлопицки С. **, Грыглевски Р. Е. **

** Гродненский государственный медицинский университет, Гродно*

*** Ягеллонский университет, Краков*

Carvedilol – beta-adrenergic antagonist with peripheral vasodilator effect which is attributed to alpha-adrenergic antagonist properties of this drug. On the other hand, there are some evidences that carvedilol may induce direct vasodilator effect. The aims of our work were: 1) to study coronary vasodilator properties of carvedilol; 2) to investigate the contribution of nitric oxide, alpha- and beta-adrenoceptors to coronary vasodilator effect induced by carvedilol. The study was carried out in isolated guinea pig heart perfused by Krebs-Henseleit buffer according to the method of Langendorff. We found that carvedilol at concentrations of 3×10^{-6} M and higher evoked concentration-dependent increase of coronary flow, whereas other beta-adrenergic antagonist with alpha-adrenergic antagonist properties labetalol did not induce coronary vasodilation. The coronary vasodilator effect induced by carvedilol was significantly reduced in presence of nonselective nitric oxide synthase inhibitor L-NAME (10-4 M), whereas both beta-1/beta-2 antagonist nadolol (10-5 M) and alpha-1/alpha-2 antagonist phentolamine (10-5 M) did not influence on the carvedilol-induced coronary vasodilation. In conclusion, carvedilol possesses coronary vasodilator properties which are mediated via endothelium-derived nitric oxide and do not depend on interaction with alpha- or beta-adrenoceptors.